

Title	Demonstration of high-affinity interleukin-2 receptors on B-chronic lymphocytic leukemia cells : Functional and structural characterization
Author(s)	矢倉, 宏祐
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37500
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について ご参照 ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・（本籍）	矢	倉	宏	祐
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	9	5	03号
学位授与の日付	平成3年2月4日			
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当			
学位論文題目	Demonstration of high-affinity interleukin-2 receptors on B-chronic lymphocytic leukemia cells : Functional and structural characterization (B細胞型慢性リンパ球性白血病細胞における Interleukin-2 受容体の機能及び構造の解析)			
論文審査委員	(主査) 教授 垂井清一郎	(副査) 教授 木谷 照夫	教授 平野 俊夫	

論文内容の要旨

【目 的】

Interleukin-2 (IL-2) はT細胞及びB細胞の増殖, 分化を調節するリンフォカインの一種であり, その受容体は p55 (CD25 抗原または Tac 抗原) と p70/75 の2つの subunit より構成される。2つの subunit は単独でも低親和性 (p55) あるいは中親和性 (p70/75) に IL-2 に結合し得るが, 両者が同時に存在すると高親和性の IL-2 受容体 (IL-2R) を形成する事が知られている。

正常B細胞においては, mitogen による活性化により高親和性 IL-2R が誘導され, IL-2 に対する増殖反応性を獲得する事が報告されている。一方, 腫瘍性B細胞については一部の症例で, CD25 抗原が発現していることが報告されているのみで, IL-2R の機能及び構造の詳細は明らかにされていなかった。本研究は, モノクローナルな表面免疫グロブリンを有するB細胞性腫瘍であるB細胞型慢性リンパ球性白血病 (B-CLL) 細胞の IL-2R の機能と構造を明らかにすることを目的とした。

【方 法】

B-CLL 患者 16 例の末梢血より単核球をえ, 液体窒素中に凍結保存し, 解凍後以下の検討を行った。

- (1) モノクローナル抗体を用いた蛍光抗体法により細胞表面の免疫グロブリン, CD2 抗原, 及び CD25 抗原を解析した。さらに単核球よりB細胞分画 (腫瘍細胞 > 99%) をえ, 以下の検討を行った。
- (2) recombinant IL-2 (rIL-2) (100 IU/ml) 存在あるいは非存在下に 10% ウシ胎児血清加 RPMI 1640 中で培養後, ^3H -thymidine を用い DNA 合成を, 細胞のサイズの増大を flowcytometer により解析した。
- (3) ^{125}I 標識 rIL-2 (^{125}I -IL-2) を使用し, 結合実験を行い, スキャッチャード解析により腫瘍細胞

胞表面の IL-2R の親和性とその細胞当りの数を算出した。

- (4) disuccinimidyl suberate を用いた affinity-cross-linking 法により ^{125}I -IL-2 と細胞表面の IL-2R 分子を結合した後、1% Triton-X100 で細胞を可溶化して得た lysate を還元下に SDS-PAGE し、オートラジオグラフィにより IL-2 結合蛋白の分子量を解析した。

【成績】

- (1) B-CLL 16 例の CD25 抗原陽性率は 0.1% より 48.8% までの間に分布したが、その蛍光強度のパターンは全例一峰性を示した。
- (2) rIL-2 添加培養後、DNA 合成が誘導されたもの (stimulation Index > 3.0) は 16 例中 4 例で、またこれらの症例では、細胞サイズの増大も認め、IL-2 に対し反応することが確認された。
- (3) IL-2 に反応した症例のうち 3 例と反応しなかった症例のうち 4 例の IL-2R を結合実験により検討したところ、IL-2 に対する反応の有無に関わらず、全例に少数の高親和性 IL-2R (29-180/cell) と低親和性 IL-2R (420-1800/cell) の発現を認めた。この成績より、IL-2 に反応して増殖する症例では、少数ながら発現している高親和性 IL-2R を介して IL-2 の増殖シグナルが伝達されと考えられた。しかし、IL-2 に対する反応が認められない症例でも、高親和性 IL-2R の発現を認めた。
- (4) IL-2 に反応しなかった症例について IL-2R 蛋白の異常の有無を検討した。Affinity-cross-linking 法により IL-2R 蛋白の分子量を解析したが、IL-2 に対する反応性に関わらず、IL-2R の subunit である p55 と p70/75 を認めた。これらの IL-2R 蛋白の分子量は活性化正常 B リンパ球における報告と同様であった。

【総括】

1. 検索した B-CLL 16 例中、rIL-2 添加培養により DNA 合成と細胞サイズの増大を認めたものは 4 例であった。
2. IL-2 に対する反応性の有無に関わらず、B-CLL 細胞表面には高親和性 IL-2R と低親和性 IL-2R が存在し、その親和性及び構成蛋白の分子量には異常を認めなかった。
3. B-CLL 細胞では、高親和性 IL-2R が発現しているが、IL-2 による増殖反応は必ずしも誘導されないことが示された。

論文審査の結果の要旨

本研究では、B-CLL 細胞における IL-2 受容体の発現と機能のあり方を明らかにする目的で、IL-2 に対する増殖反応の有無の検討と、結合実験、affinity-cross-linking 法を用いた詳細な IL-2 受容体の解析を行った。

その結果、B-CLL 細胞においては高親和性及び低親和性の IL-2 受容体を発現しているにも関わらず、大部分は IL-2 に対する増殖反応性を認めないことを明らかにした。これは従来知られていなかった新

知見である。以上より本研究は学位に値すると考えられる。